

BAB III

METODE PENELITIAN

3.1. Jenis Penelitian

Penelitian dilakukan menggunakan penelitian deskriptif. Penelitian deskriptif dilakukan dengan tujuan untuk mengetahui keberadaan variabel (Sugiyono, 2015).

3.2. Lokasi dan Waktu Penelitian

Kegiatan penelitian dilakukan dengan memanfaatkan fasilitas internet di Laboratorium Riset Bioteknologi FPMIPA UPI pada bulan Februari 2018 hingga Maret 2018.

3.3. Alat dan Bahan

Alat dan bahan yang digunakan pada penelitian ini bisa dilihat pada Tabel 3.1 & 3.2. Semua alat atau perangkat lunak yang digunakan dalam penelitian ini bersifat *open source* atau gratis. Informasi untuk mengunduh perangkat lunak tersebut dapat dilihat pada Tabel 3.3.

Tabel 3.1. Alat yang digunakan

No.	Alat	Spesifikasi	Jumlah
1	Komputer Acer A475G-38LQ	CPU Intel Core i3-6006U 2.0GHz; RAM 4GB; VGA GEFORCE 940MX	1 unit
2	Basis data PubChem	http://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov	1 unit
3	Basis data RSCB PDB	www.rscb.org	1 unit
5	Basis Data DrugBank	www.drugbank.ca	1 unit
	Perangkat lunak AutoDock Tools	Versi 4.2.6 11 Agustus 2014	1 unit
6	Perangkat lunak AutoDock Vina	Versi 1.1.2 11 Mei 2011	1 unit
7	Perangkat lunak Protein-Ligand Interaction Profiler	Versi 2018	1 unit
8	Perangkat lunak Google Chrome	Versi 67.0.3396.87 64 bit	1 unit
9	Perangkat Lunak PyMOL	Versi 2.1.1 9 April 2018	1 unit
10	Open Babel	Versi 2.4.1	1 unit

Ihsan Mulyadi Kurniawan, 2018

STUDI SENYAWA KUERSETIN DARI EKSTRAK DAUN CIPLUKAN (*PHYSALIS ANGULATA*) SEBAGAI ANTI KANKER MENGGUNAKAN ANALISIS BIOINFORMATIK

Universitas Pendidikan Indonesia | repository.upi.edu | perpustakaan.upi.edu

Tabel 3.2. Bahan yang digunakan

No	Bahan	Jenis	Spesifikasi	Jumlah
1	Data struktur 3D quercetin 3-O-rutinoside	Ligan	.SDF	1 unit
2	Data struktur 3D 3-O-Methylquercetin	Ligan	.SDF	1 unit
4	Data struktur 3D AKT1	Protein	.PDB; hasil kristalografi	1 unit
5	Data struktur 3D PI3K	Protein	.PDB; hasil kristalografi	1 unit
6	Data struktur 3D CDK6	Protein	.PDB; hasil kristalografi	1 unit
7	Data struktur 3D MAPK1	Protein	.PDB; hasil kristalografi	1 unit
8	Data struktur 3D BCL-2	Protein	.PDB; hasil kristalografi	1 unit
9	Data struktur 3D TGF- β	Protein	.PDB; hasil kristalografi	1 unit
10	Data struktur 3D PDK1	Protein	.PDB; hasil kristalografi	1 unit

Tabel 3.3. Laman unduh perangkat lunak yang digunakan

No	Nama	Laman	Referensi
1	AutoDock Tools	http://autodock.scripps.edu/downloads/autodock-registration/autodock-4-2-download-page/	Trott & Olson, 2010
2	AutoDock Vina	http://vina.scripps.edu/download.html	Trott & Olson, 2010
3	Google Chrome	https://www.google.com/chrome/	Reiss dkk. 2009
4	Open Babel	http://openbabel.org/wiki/Category:Installation	O'Boyle dkk. 2011
5	Protein-Ligand Interaction Profiler	https://projects.biotec.tu-dresden.de/plip-web/plip/index	Salentin dkk. 2015
	PyMOL	https://pymol.org/2/#download	DeLano, 2002

Ihsan Mulyadi Kurniawan, 2018

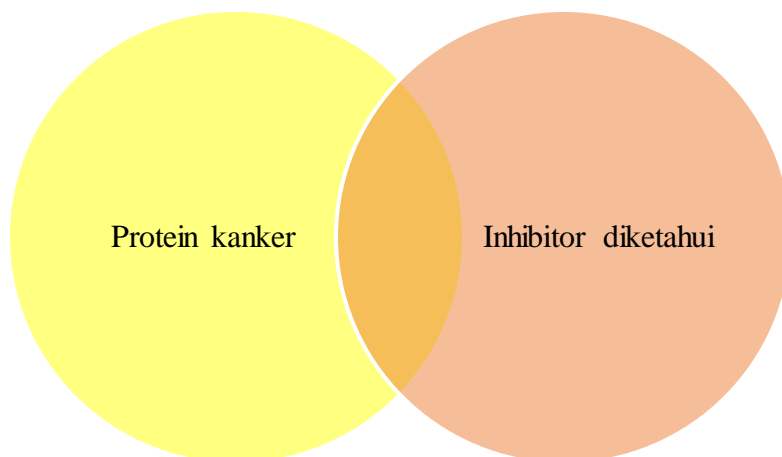
STUDI SENYAWA KUERSETIN DARI EKSTRAK DAUN CIPLUKAN (*PHYSALIS ANGULATA*) SEBAGAI ANTI KANKER MENGGUNAKAN ANALISIS BIOINFORMATIK

Universitas Pendidikan Indonesia | repository.upi.edu | perpustakaan.upi.edu

3.4. Prosedur Penelitian

3.4.1. Koleksi Reseptor

Protein kanker yang digunakan dalam penelitian ini dilakukan seleksi terlebih dahulu agar memenuhi kriteria, yaitu memiliki inhibitor (obat) yang sudah diketahui serta memiliki ligan lokal non-protein, dapat dilihat pada Gambar 3.1. Adanya kriteria tersebut berperan sebagai pembanding hasil penelitian antara quercetin dan inhibitor yang telah ditemukan. Protein yang digunakan merupakan protein esensial yang terdapat pada sel kanker, maka dari itu dilakukan kajian literatur untuk memperkuat landasan penentuan karakteristik protein. Protein kanker yang telah diseleksi kemudian dikoleksi dari *Protein Data Bank* yang dapat diakses pada laman <http://rcsb.org/pdb/home> (Berman dkk. 2000). Data protein yang diambil yaitu data struktur 3D dalam format PDB.



Gambar 3.1. Kriteria protein target (Dokumentasi Pribadi, 2018)

3.4.2. Koleksi Ligan

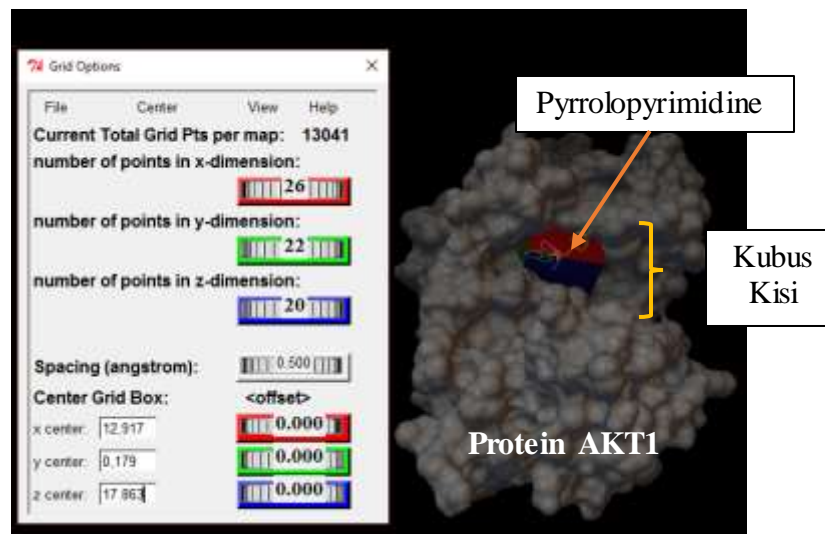
Data ligan diperoleh dari basis data PubChem yang dapat diakses pada laman <http://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov> (Kim dkk. 2015). Data ligan yang dikoleksi yaitu senyawa Quercetin 3-O-rutinoside, 3-O-Methylquercetin, dan senyawa inhibitor,

data yang diambil berupa data struktur 3D dalam format SDF. Untuk data struktur 3D senyawa inhibitor, diperoleh dari data hasil kristalografi yang terdapat pada protein kanker yang digunakan. Daftar senyawa inhibitor untuk tiap reseptor protein diperoleh dari basis data DugBank (Wishart dkk. 2007). Senyawa ligan dalam format .SDF dikonversi ke dalam format .PDB menggunakan perangkat lunak Open Babel (O'Boyle dkk. 2011).

3.4.3. Preparasi Penambatan Molekuler

Data protein dibuka dengan perangkat lunak PyMOL untuk dilakukan penghapusan kelompok ligan (bila ada). Setelah penghilangan kelompok ligan data protein kemudian dibuka dengan perangkat lunak Autodock Tools untuk dilakukan penghapusan molekul air dan penambahan atom hidrogen polar. Selanjutnya lokasi penambatan ligan pada protein reseptor diatur dan data protein tersebut disimpan dalam format .pdbqt. Kemudian data ligan dengan format .PDB dibuka dengan perangkat lunak Autodock Tools untuk dilakukan penambahan *charge* lalu disimpan ke dalam format .pdbqt.

Lokasi situs penambatan disesuaikan dengan posisi inhibitor dengan mengklik Grid>Set Map Types>Choose Ligand, kemudian pilih Grid Box>Center>Center on Ligand. Lokasi penambatan (kubus kisi) disesuaikan dengan ukuran ligan (tidak lebih kecil dari ukuran ligan), untuk contoh dari penentuan kubus kisi pencarian dapat dilihat pada Gambar 3.2, terlihat inhibitor protein AKT1 terdapat di dalam situs aktif protein. Data konfigurasi protein reseptor dan ligan yang telah dilakukan preparasi kemudian disimpan dalam format .txt.



Gambar 3.2. Kubus kisi penambatan pada situs aktif protein AKT1
(Dokumentasi Pribadi, 2018)

3.4.4. Penambatan Molekuler

Proses penambatan dilakukan dengan program Autodock Vina yang terintegrasi dalam perangkat lunak Autodock Tools dengan menggunakan data konfigurasi sebelumnya yang sudah dibuat dalam format .txt. Hasil penambatan keluar dalam bentuk nilai energi bebas gibbs pada konsol cmd Autodock Vina (lampiran). Data posisi ligan kemudian disimpan dalam format .pdbqt.

3.4.5. Validasi Penambatan

Inhibitor hasil kristalografi yang didapatkan dari situs aktif protein dimodelkan menggunakan perangkat lunak PyMOL kemudian dibandingkan secara visual dengan pemodelan hasil penambatan molekuler. Bila model tidak sesuai dengan inhibitor hasil kristalografi maka dilakukan penambatan ulang, hal ini bertujuan untuk mendapatkan posisi yang tepat mengenai lokasi situs aktif protein. Nilai RMSD inhibitor hasil penambatan dan hasil kristalografi dihitung. Kalkulasi penghitungan nilai RMSD dilakukan pada perangkat lunak PyMOL dengan memasukkan perintah “rms obj1, obj2” pada konsol.

3.4.6. Visualisasi

Ihsan Mulyadi Kurniawan, 2018

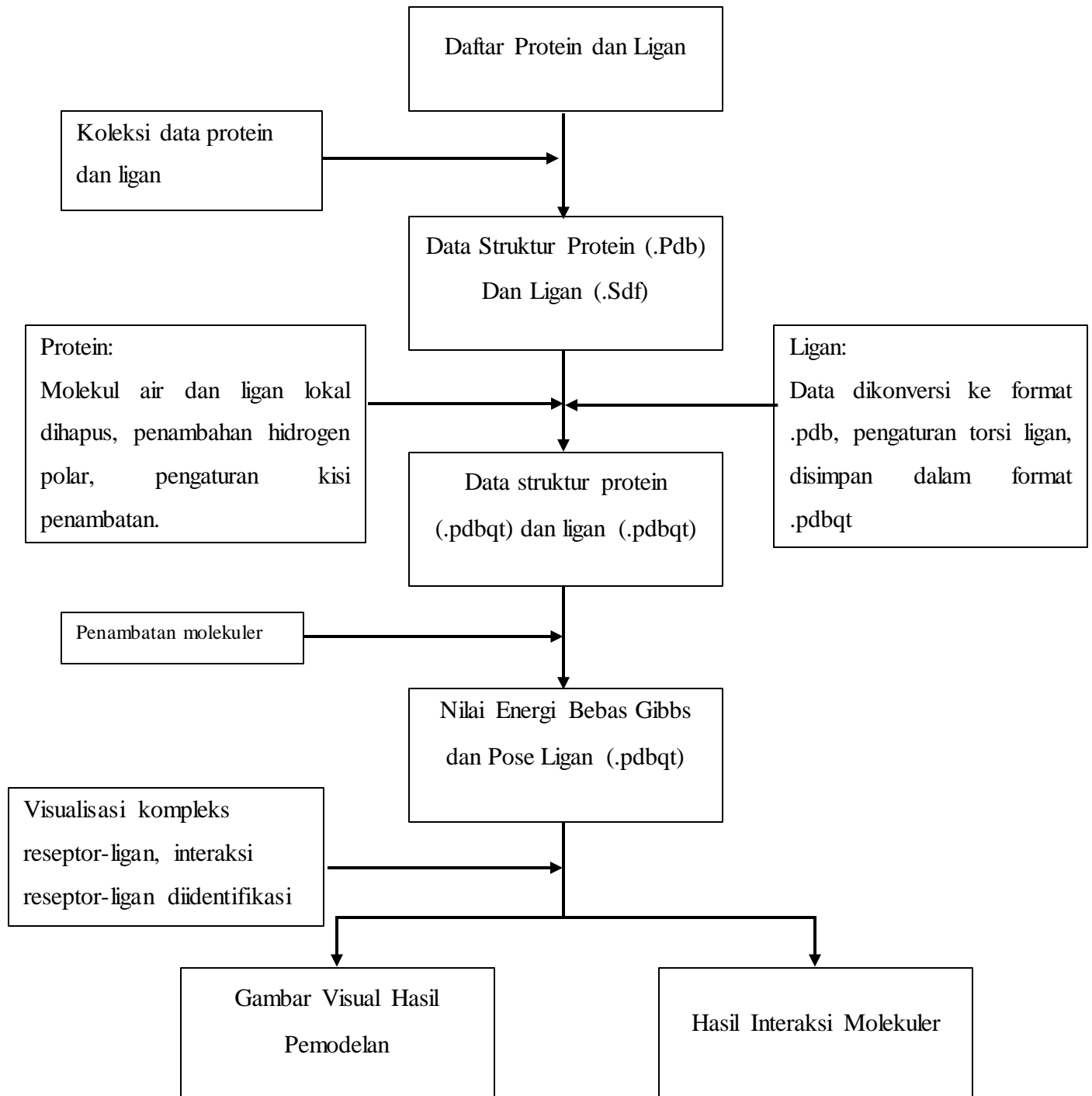
STUDI SENYAWA KUERSETIN DARI EKSTRAK DAUN CIPLUKAN (*PHYSALIS ANGULATA*) SEBAGAI ANTI KANKER MENGGUNAKAN ANALISIS BIOINFORMATIK

Universitas Pendidikan Indonesia | repository.upi.edu | perpustakaan.upi.edu

Data posisi ligan terhadap protein reseptor yang didapatkan dari hasil penambatan menggunakan perangkat lunak Autodock Tools kemudian divisualisasikan dengan perangkat lunak PyMOL (DeLano, 2002). Data hasil penambatan juga divisualisasikan dengan perangkat lunak PLIP (Salentin dkk. 2015) untuk dilihat jenis interaksi yang terjadi yaitu, jumlah ikatan hidrogen, residu asam amino dan interaksi hidrofobik yang terbentuk dari penambatan ligan dengan protein reseptor.

3.4.7. Alur Penelitian

Berdasarkan uraian metode penelitian sebelumnya maka didapatkan Alur penelitian seperti yang tercantum dalam Gambar 10. Diawali dengan mencari daftar protein dan ligan sampai dengan menemukan hasil visualisasi dan interaksi molekuler.



Ihsan Mulyadi Kurniawan, 2018

STUDI SENYAWA KUERSETIN DARI EKSTRAK DAUN CIPLUKAN (*PHYSALIS ANGULATA*) SEBAGAI ANTI KANKER MENGGUNAKAN ANALISIS BIOINFORMATIK

Universitas Pendidikan Indonesia | repository.upi.edu | perpustakaan.upi.edu

Gambar 3.3. Alur Penelitian (Dokumentasi Pribadi, 2018)

Ihsan Mulyadi Kurniawan, 2018

STUDI SENYAWA KUERSETIN DARI EKSTRAK DAUN CIPLUKAN (PHYSALIS ANGULATA) SEBAGAI ANTI KANKER MENGGUNAKAN ANALISIS BIOINFORMATIK

Universitas Pendidikan Indonesia | repository.upi.edu | perpustakaan.upi.edu